烙铁头蛇毒血小板聚集素作为筛选抗血小板药物的模式初探

马国义　张子昭　陈植和

（昆明医学院药理教研室）

摘　要

本文利用烙铁头蛇毒血小板聚集素（TMVA）作为筛选抗血小板药的工具，对三种中草药有效成分普罗托品，三七叶总皂甙和珠子参总皂甙进行了筛选，并与ADP模式相比较。结果发现普罗托品及珠子参总皂甙对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用；而三七叶总皂甙则只能抑制ADP诱导的家兔血小板聚集，不能抑制TMVA诱导的家兔血小板聚集。普罗托品抑制ADP及TMVA诱导家兔血小板聚集的IC_{50}分别为26.85±10.07μM和38.04±12.11μM。珠子参总皂甙（2 mg/ml）抑制ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集的最大抑制率分别为51.7±4.7和50.3±4.7%。三七叶总皂甙（3 mg/ml）抑制ADP诱导家兔血小板聚集的最大抑制率为44.8±4.7%。

关键词　普罗托品　三七叶总皂甙　珠子参总皂甙　血小板聚集　烙铁头蛇毒血小板聚集素

烙铁头蛇毒血小板聚集素是从我国湖南产烙铁头蛇毒(*Trimeresurus mucrosquamatus* venom）中分离出的一种蛋白成分。能诱导人及多种动物的血小板聚集。它对血小板的活化作用是多方面的，既可通过释放内源性ADP，促进花生四烯酸代谢产生TXA_2，同时又可通过一条不依赖于ADP，TXA_2释放的血小板活化第三条途径（即PAF途径）诱导血小板聚集(陈宏等，1986)，这就使它有可能成为筛选抗血小板药的一种新的模式，本文利用该模式研究了三种中草药有效成分普罗托品、三七叶总皂甙及珠子参总皂甙对血小板聚集性的影响，并与ADP模式进行了比较。

材 料 和 方 法

（一）药品及试剂　TMVA（干粉）中国科学院昆明动物研究所提供。二磷酸腺苷（ADP）美国Sigma公司产品。普罗托品（Protopine）系从罂粟科植物紫金龙根中提出的一种主要有效成分，由大理医药公司提供。三七叶总皂甙系云南药物研究所供

给。珠子参总皂甙系昆明植物研究所提供。

（二）富血小板血浆（PRP）和贫血小板血浆（PPP）的制备 健康家兔（2—3 kg）清醒状态下自颈动脉插管放血收集于硅化离心管中，并用3.8%枸橼酸钠9:1（V/V）抗凝，室温离心（1000xg）10分钟取上层血浆即为富血小板血浆即PRP。剩余血液再以3000xg离心15分钟，取上层液即为贫血小板血浆即PPP。试验过程中PRP中的血小板数调节在50—60万/mm^3。

（三）血小板聚集实验 血小板聚集程度的测定按Born氏1962比浊法原理的修改法（阮长耿等，1983）进行。药物对血小板聚集的抑制率按下式计算：

$$聚集抑制率(\%)=\frac{对照聚集百分率-药物聚集百分率}{对照聚集百分率}\times 100\%$$

结 果 和 讨 论

（一）Protopine对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集均有明显的抑制作用，随着剂量的增加抑制作用逐渐增强（见表1），其抑制ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集的IC_{50}分别为26.85±10.07μM和38.04±12.11μM。

表1 Protopine对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 1 The effect of protopine on rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA

诱导剂 / 观察指标 / 药物剂量(M)	ADP (10μM)		TMVA (0.22μM)	
	聚集率（%）	抑制率（%）	聚集率（%）	抑制率（%）
0	58.0±4.2	—	71.3±5.4	—
1×10^{-6}	57.8±4.3	0.35±0.54	69.6±4.2	2.3±3.5
3×10^{-6}	43.6±4.7**	24.9 ±5.5	59.7±9.8*	16.3±6.2
1×10^{-5}	39.7±3.0**	31.6 ±2.0	52.8±5.6**	25.8±6.2
3×10^{-5}	30.8±5.3**	46.9 ±8.2	44.6±5.5**	37.4±6.6
1×10^{-4}	20.4±6.0**	65.3 ±8.1	30.1±7.9**	58.1±8.8
3×10^{-4}	2.7±0.84**	95.4 ±1.2	0.84±1.5**	98.9±2.1
1×10^{-3}	0.0±0.0**	100.0 ±0.0	0.0 ±0.0**	100.0±0.0

$\bar{X}$±SD(n=6) * $P<0.05$ ** $P<0.01$

（二）三七叶总皂甙对ADP诱导的家兔血小板聚集有抑制作用，而对TMVA诱导的家兔血小板聚集无影响（见表2）。

（三）珠子参总皂甙对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用，且随着剂量的增加抑制效应逐渐增强（表3）。

TMVA是从我国湖南产烙铁头蛇毒中提出的一种蛋白成分，能诱导人和多种动的血小板发生聚集。它对血小板的活化作用是多方面的，既可以通过释放内源性ADP，形成TXA_2，又可通过一条不依赖于ADP及TXA_2的途径即PAF途径诱导血小板聚集，这

就使它有可能作为筛选抗血小板药的一种新模式。我们利用该模式对三种中草药有效成分进行筛选的结果表明：普罗托品及珠子参总皂甙对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用，而三七叶总皂甙则只抑制ADP诱导的家兔血小板聚集，不抑制TMVA诱导的聚集，说明TMVA作为筛选抗血小板药的模式有其自身的特点，即能抑制ADP诱导的血小板聚集的药物不一定能抑制TMVA诱导的聚集，而抑制TMVA诱导的聚集的药物则对ADP诱导的聚集也有作用。这与TMVA的生理特性相吻合。提示TMVA可作为一个新的筛选抗血小板药物模式。

表2　三七叶总皂甙对ADP诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 2 The effect of total saponins of panax notoginseng leaves on rabbit platelet aggregation induced by ADP

诱导剂 / 观察指标 / 药物剂量(mg/ml)	ADP (10μM)	
	聚集率（%）	抑制率（%）
0	56.6±5.0	—
1.0	41.2±5.1**	27.3±4.5
2.0	35.7±6.1**	36.3±5.8
3.0	31.5±4.2**	44.5±3.6

$\bar{X}\pm SD(n=6)$　　** P<0.001

表3　珠子参总皂甙对ADP及TMVA诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 3 The effects of total saponins of panax japonicus on rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA

诱导剂 / 观察指标 / 药物剂量(mg/ml)	ADP (10μM)		TMVA (0.22μM)	
	聚集率（%）	抑制率（%）	聚集率（%）	抑制率（%）
0	53.5±2.5	—	71.2±4.8	—
0.5	42.3±3.5**	18.6±1.2	57.9±4.1**	18.5±4.8
1.0	36.1±2.1**	32.5±3.6	49.8±3.9**	30.1±2.9
2.0	26.3±1.6**	51.7±4.7	35.7±0.9	50.3±4.7

$\bar{X}\pm SD(n=6)$　　** P<0.01

参考文献

阮长耿等　1983　烙铁头蛇毒对血小板的活化作用。动物学研究　4(3):245—254

陈　宏　烙铁头蛇毒血小板聚集素（TMVA）诱导的人血小板活化作用的研究。见本专辑

Born GVR 1962 Aggregation of blood platelets by adenosine diphophate and its reversal. *Nature* 194:927—929

Wang zhong *et al.*, 1982 Effect of a medicinal Chinese herd on human platelet function. Thrombosis and Haemostasis 48:301

STUDIES ON TMVA USED AS A MODEL FOR SCREENING ANTIPLATELET DRUGS

Ma Guoyi Zhang Zizhao Chen Zhihe

(Department of pharmacology, Kunming Medical College)

TMVA is a protein abstracted from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. It can induce platelet aggregation of human and many animals. The effect is realized by several ways. TMVA can induce platelet aggregation not only by increasing the release of ADP and the formation of thromboxane A_2, but also by a pathway similar to that of PAF. Thus, TMVA may be used as a model for screening antiplatelet drugs. We primarily put the model to study the effects of three principles or components of Chinese medicinal herbs: protopine, total saponins of panax notoginseng (SAN CHI) leaves and total saponins of panax japonicus (ZHU ZI SHEN) on rabbit platelet aggregation. The results show both protopine and total saponins of panax japonicus can inhibit rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA; Total saponins of panax notoginseng leaves can only inhibit rabbit platelet aggregation induced by ADP, but not by TMVA. These are in accord with the physiological properties of TMVA and show TMVA may be used as a good model for screening antiplatelet drugs.

Key words Protopine Total saponins of panax notoginseng leaves Total saponins of panax japonicus Platelet aggregation TMVA